

**Cytogenetische und biochemische
Untersuchungen bei Kindern mit
Primidon-Monotherapie**

von

Gerd Galle

aus

Chemnitz/Sachsen

1978 № 3 69



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Humangenetik und Anthropologie
der Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. G. Koch

Cytogenetische und biochemische Untersuchungen bei Kindern mit Primidon-Monotherapie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich - Alexander - Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt
von
Gerd Galle
aus
Chemnitz/Sachsen

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer
Referent: Priv.-Doz. Dr. G. Schwanitz
Korreferent: Prof. Dr. G. Koch

Tag der mündlichen Prüfung: 23.11.1978

Inhaltsverzeichnis:

Einleitung

Methodik und Probandenauswahl

Ergebnisse

Diskussion

Zusammenfassung

Literatur

Tabellarischer Anhang

Lebenslauf

Einleitung:

Wiederholt ist gezeigt worden, daß bei antikonvulsiv behandelten Personen eine erhöhte Aberrationsrate der Chromosomen aus Lymphozytenkulturen vorliegt (1, 5, 9, 25). Antikonvulsive Therapie während der Schwangerschaft hat diaplazentar die gleiche Wirkung beim Kind (1, 5, 9, 25).

Da diese Untersuchungen hauptsächlich auf eine, bei Anfallsleiden übliche Kombinationstherapie begrenzt waren, kann man die schädigende Wirkung der einzelnen Mittel daraus nicht genau abschätzen (9). Geeignet zur Prüfung des einzelnen Antikonvulsivum ist nur die Monotherapie.

Diese ist gegeben bei den Probanden der vorliegenden Untersuchung, anfallskranken Kindern, die auf Primidon (Liskantin^R, Mylepsinum^R) eingestellt wurden. Primidon ist eine barbiturat-ähnliche Substanz, wegen seiner relativ geringen Nebenwirkungen (Müdigkeit, Exantheme) ist es ein häufig angewandtes Antikonvulsivum; es eignet sich vor allem zur Behandlung großer Anfälle. Im Körper wird Primidon hauptsächlich zu Phenobarbital und Phenyläthylmalondiamid metabolisiert.

Bei in vitro-Versuchen wurde eine Chromosomen schädigende Wirkung für Primidon und Phenobarbital, jedoch nicht für Phenyläthylmalondiamid nachgewiesen (6). Dasselbe wurde im Tierversuch bei Ratten für Primidon und DPH aufgezeigt (28).

In den bis heute vorliegenden Arbeiten zur Chromosomen schädigenden Wirkung von Antikonvulsiva wurden immer der Anteil gestörter Mitosen sowie die Aberrationstypen als Parameter bestimmt. In den letzten Jahren wurde eine Methode entwickelt, durch die die Häufigkeit von Stückaustauschen zwischen Schwesterchromatiden als Maßstab der Chromosomenschädigung bestimmt werden kann, vor allem seit Verfahren erarbeitet wurden, mit denen diese sogenannten Schwesterchromatidaustausche (englisch: sister chromatid exchanges = SCEs) mit weitaus größerer Genauigkeit dargestellt werden können als mit der bislang bekannten autoradiographischen Methode nach Taylor (34).

Bei den neuen Verfahren wird Zellkulturen Bromdesoxyuridin (BrdU) zugegeben. In zwei aufeinanderfolgenden Zellzyklen wird dieses als Thyminanalogon in die DNA eingebaut. Nach diesen zwei Zyklen haben die Chromosomen gemäß dem Prinzip der semi-konservativen DNA-Replikation eine Chromatide aus DNA, in der Thymin in beiden Strängen durch BrdU substituiert ist, und eine Chromatide aus nur einfach substituierter DNA. Diese Chromatiden färben sich nun mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen unterschiedlich an (18). Eine dauerhafte Färbung wird erreicht mit Giemsa nach Vorfärbung mit Hoechst 33258 (26), oder auch allein mit Giemsa nach vorangehendem Erhitzen in Phosphatpuffer (17). Die SCEs stellen sich in der Schwesterstrangdifferentialfärbung gut dar (Abb. 1, S. 3).

Obwohl der genaue Entstehungsmechanismus der SCEs noch unbekannt ist, wurde für verschiedene mutagene Substanzen gezeigt, daß die Anzahl der SCEs ein sehr empfindliches Maß der durch diese bewirkten Chromosomenschädigung ist (2, 11, 15, 19, 27, 30, 36). Nur ein geringer Anteil der SCEs wird durch das BrdU selbst induziert (19).

In der vorliegenden Arbeit werden nun die Chromosomenschäden bei anfallskranken Kindern vor und nach Beginn einer Primidontherapie untersucht.

Dabei werden sowohl die herkömmlichen Chromosomenaberrationen als auch die SCEs gezählt. Beide Methoden werden miteinander verglichen.

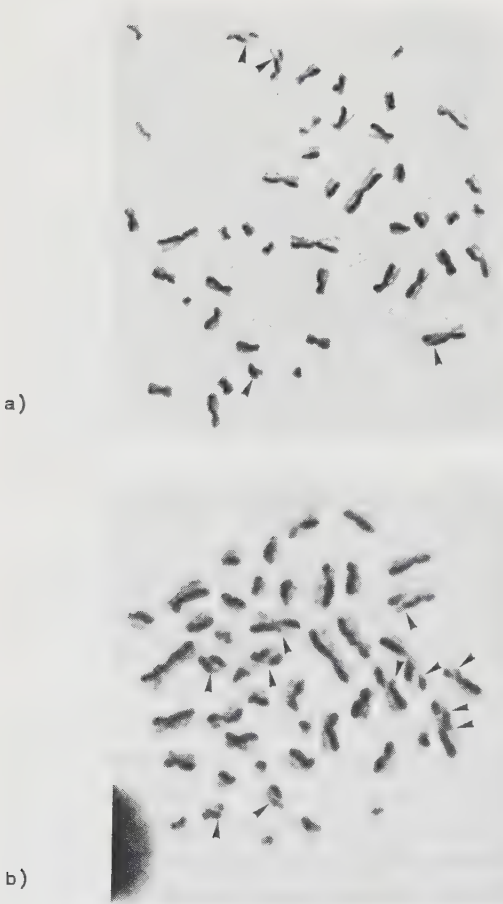


Abb.1 (a, b): Zwei Metaphasen ($2n = 46, XY$; Proband 12) in Schwesterstrangdifferentialfärbung. Die SCEs sind mit Pfeilen markiert.

a) 4 SCEs vor Einstellung auf Primidon.

b) 11 SCEs nach Einstellung auf Primidon.

Methodik und Probandenauswahl:

Die Untersuchung wurde an 14 Kindern im Alter zwischen 8 Monaten und 13 Jahren durchgeführt. Davon waren 9 Jungen, 5 Mädchen (vgl. Tab.I).

Bei allen Kindern waren cerebrale Krampfanfälle diagnostiziert worden. Bei den Anfällen handelte es sich in 11 Fällen um generalisierte Anfälle vom grand mal-Typ. Dabei bestand in einem Fall der Verdacht eines Hirntumors (Patient 2), in einem Fall traten die Anfälle im Zusammenhang mit einer Neurofibromatosis Recklinghausen auf (Patient 5). Von den anderen drei Probanden hatte einer Fieberkrämpfe (Patient 3), bei einem handelte es sich um Jackson-Anfälle (Patient 9), bei einem um Temporallappenanfälle (Patient 10).

Alle Kinder wurden auf Primidon eingestellt. Weitere Präparate wurden in keinem Fall gegeben.

Kein Kind hatte zu den Zeitpunkten der cytogenetischen Untersuchungen einen manifesten Virusinfekt oder wurde mit einem Medikament behandelt, von welchem eine clastogene Wirkung auf die Chromosomen bekannt ist.

Bei allen Probanden wurden Chromosomenanalysen aus Lymphozytenkulturen durchgeführt, um die Wirkung der Antikonvulsivatherapie auf die Chromosomen zu prüfen. Als Kontrollwerte dienten Untersuchungen der Chromosomen des gleichen Kindes unmittelbar vor Beginn der Einstellung auf das Antikonvulsivum. Damit konnte gleichzeitig der Effekt des Anfallsleidens an sich ausgeschlossen werden.

Die zweiten Chromosomenanalysen wurden etwa 3 1/2 Monate nach der ersten Primidoneinnahme durchgeführt, als die Kinder auf die volle Dosis des Medikamentes eingestellt waren. Parallel zur zweiten Chromosomenanalyse wurden bei allen Patienten die Serumkonzentrationen von Primidon und seinem Hauptabbauprodukt Phenobarbital mittels Thermo-Gaschromatographie (35) bestimmt.

Durch ungleiche Primidoneinnahme und unterschiedliche Metabolisierungsgeschwindigkeiten bedingte Fehler wurden so ausgeschlossen.

Aus den jeweiligen Blutentnahmen wurden nach 1 bis 3 Tagen die Chromosomenkulturen angelegt. Jeweils vor und nach Primidon-einstellung wurden pro Patient 6 Parallelkulturen angesetzt. Hierbei fand die leicht abgewandelte Methode nach Moorhead und Mitarbeiter (24) Anwendung. Als Kulturmedium diente je 4,5 ml Medium Ham's F-10 (seromed) und 0,5 ml fetales Kälberserum (flow laboratories), dem jeweils 15 Tropfen Vollblut beigegeben wurden. In drei von den sechs Parallelkulturen wurde BrdU in einer Endkonzentration von 10 µg/ml zugegeben. Um die Photolyse der diese Substanz enthaltenden DNA zu vermeiden, wurden diese Kulturen vor Lichteinfluß geschützt (13). Während der 72 Stunden dauernden Inkubation wurde jeweils zwei Stunden vor der Aufbereitung Colcemid zugegeben. Dann wurden die Zellen wie üblich mit hypotonischer KCl-Lösung behandelt und anschließend mit Methanol-Eisessig (3:1) fixiert.

Aus jeder Kultur wurden durchschnittlich drei Präparate hergestellt. Die Präparate aus den "BrdU-Kulturen" wurden vorerst in lichtundurchlässigen Schachteln gelagert. Die anderen Präparate wurden sogleich nach der Aufbereitung mit Orcein gefärbt und anschließend im Phasenkontrastmikroskop auf strukturelle und numerische Chromosomenaberrationen untersucht. Um durch die Kultur bedingte Fehler auszuschließen, wurden pro Untersuchung 100 Mitosen aus verschiedenen Kulturen verschlüsselt ausgewertet.

Bei den strukturellen Aberrationen wurden folgende Typen unterschieden: Gaps (G', G''), Brüche (B', B''), Umbaufiguren (E', E''). Diese Einteilung erfolgte nach der Definition von Gebhart (7). Weiterhin wurde die Häufigkeit von hyperploiden und polyploiden, sowie von Zellen mit Endoreduplikationen bestimmt. Auch unspezifische Chromosomenstörungen wie Spiralisierungstörungen, "stickiness", oder die Häufigkeit von Satelliten-

assoziationen wurden untersucht. Konnten einzelne Störungen im Mikroskop nicht eindeutig analysiert werden, wurden die jeweiligen Mitosen fotografiert, und die Bestimmung wurde am Karyogramm durchgeführt.

Die Schwesterstrangdifferentialfärbung der Mitosen aus den mit BrdU vorbehandelten Kulturen wurde nach der Methode von Korenberg/Freedlander (17) folgendermaßen durchgeführt: Nach 8-tägiger Lagerung wurden die Präparate aus diesen Kulturen in 1,0 M NaH_2PO_4 Puffer (ph 8) bei 88°C 12 Minuten lang erhitzt, kurz mit aqua dest. gespült, in 2% Giemsalösung 10 Minuten lang gefärbt und wiederum kurz gespült. So konnte bei 6 Probanden (vor und nach Einstellung auf Primidon) eine auswertbare Schwesterstrangdifferentialfärbung erreicht werden. Bei der Auswertung dienten wieder die Untersuchungen vor Therapiebeginn als Kontrollen. Zur Bestimmung der SCEs wurden bei jeder Untersuchung 40 gut gefärbte Metaphasenplatten fotografiert. Die Mitosen wurden dann an Hand der Fotonegative im Negativbetrachter und an Hand der Papierabzüge ausgewertet. Es wurde die Anzahl der SCEs pro Chromosom bestimmt. Die Chromosomen mit Austausch wurden den jeweiligen Chromosomengruppen zugeordnet (Denver-Nomenklatur). Auf den einzelnen Chromosomen wurde festgestellt, ob die Austauschstellen im langen oder im kurzen Arm lokalisiert waren. Fand sich ein Austausch an der gleichen Stelle bei zwei homologen Chromosomen, so wurde dies speziell vermerkt. Waren in einer Mitose wegen schlechter Färbung mehr als 5 Chromosomen nicht zu beurteilen, so wurden nur die SCEs der 6 A-Chromosomen ausgezählt und der Parameter SCEs pro A-Chromosom vor und nach der Behandlung bestimmt. Da die SCE-Rate pro Chromosom von der Chromosomenlänge abhängig ist (18), sind die SCE-Raten der A-Chromosomen eines Patienten vor und nach Behandlung aussagekräftige Größen, insbesondere weil durch diese Auswertungsmethode weitaus mehr Mitosen in die Untersuchung aufgenommen werden können.

Ergebnisse:

Die Chromosomenanalysen zeigten vor der Primidonbehandlung keine primären, strukturellen oder numerischen Besonderheiten. Der Karyotyp entsprach jeweils dem phänotypischen Geschlecht.

Während der Therapie zeigten die Analysen bei allen 14 Probanden gegenüber den Kontrollen einen höheren Anteil gestörter Mitosen. Waren zuvor durchschnittlich 4% der Mitosen gestört, so waren es nun durchschnittlich 9%.

Da Umbafiguren nur unwesentlich vermehrt auftraten (0,2% vor Therapie, 0,3% danach), beschränkte sich die Zunahme der einzelnen Aberrationstypen hauptsächlich auf Gaps und Brüche. In Tabelle I sind die Zahlenwerte der strukturellen Aberrationen bei den einzelnen Patienten aufgeführt.

Bei der Untersuchung der numerischen Aberrationen fanden sich vor Therapiebeginn folgende Durchschnittswerte: 0% Endoreduplikationen, 0,3% tetraploide und 0,2% hyperploide Zellen. Während der Therapie fanden sich 0,1% Endoreduplikationen, 0,4% tetraploide und 0,1% hyperploide Zellen. Diese Werte lassen bezüglich der Aberrationen auslösenden Wirkung einer Primidonbehandlung keine Aussage zu; außerdem liegen beide Werte verglichen mit den Ergebnissen von Große und Mitarbeitern (9) im Normbereich.

Eine Zunahme der unspezifischen Chromosomenstörungen trat nicht auf.

Auch bei der Auszählung der SCEs ergaben sich Anstiege: Bei der Auswertung der SCEs aller 46 Chromosomen pro Zelle fanden sich vor Therapie durchschnittlich 0,07, nach Therapiebeginn 0,12 SCEs pro Chromosom.

Bei der Auswertung der SCEs der 6 A-Chromosomen waren es zuvor durchschnittlich 0,18, danach 0,27 SCEs pro A-Chromosom.

In einem Fall (Patient 8) blieb der Wert bei der Auszählung der SCEs aller 46 Chromosomen gleich, bei der Auswertung der SCEs pro A-Chromosom fand sich ein Anstieg von 0,21 auf 0,22. In diesem Fall konnten jedoch bei der Auswertung der A-Chromosomen

ungefähr doppelt so viele Mitosen untersucht werden. Die Zahlenwerte der SCEs aller 46 Chromosomen sind aus Tabelle II, die der SCEs der A-Chromosomen aus Tabelle III zu entnehmen.

Beim Vergleich der beiden in dieser Untersuchung angewandten Aberrationsparameter "Anteil gestörter Mitosen" und "SCEs pro Chromosom" bestand kein linearer Zusammenhang zwischen dem Anstieg der strukturellen Chromosomenaberrationen und dem Anstieg der SCEs. Bemerkenswert ist aber, daß bei Patient 8 auch der Anstieg der strukturellen Aberrationen nur geringfügig war.

Die Anwendung des Vorzeichen-Tests ergibt: Unter der Voraussetzung der Nullhypothese, daß gleichviel Zu- und Abnahmen zu erwarten sind, ist die Wahrscheinlichkeit, daß es sich hierbei um Zufallsergebnisse handelt bei 14 untersuchten Fällen gleich $1 : 2^{14}$, bei 6 untersuchten Fällen (das ist die Zahl der Probanden, bei denen die SCEs ausgewertet wurden) gleich $1 : 2^6$. Die Zunahme der Chromosomenaberrationen und der SCEs ist also mit größter Sicherheit durch die Primidontherapie verursacht.

Eine Korrelation der Aberrationen und der SCEs mit den jeweiligen Primidon- oder Phenobarbitalserumspiegeln war nicht ersichtlich.

Beim Vergleich der Anstiege der strukturellen Chromosomenaberrationen mit dem Alter des jeweiligen Patienten stellte sich eine hohe negative Korrelation ($r = -0,82$) heraus (Abb. 2, S. 9). Je jünger die Patienten waren, um so höher waren die Anstiege der strukturellen Aberrationen. Für die Zunahmen der SCEs trat keine ähnliche Korrelation auf.

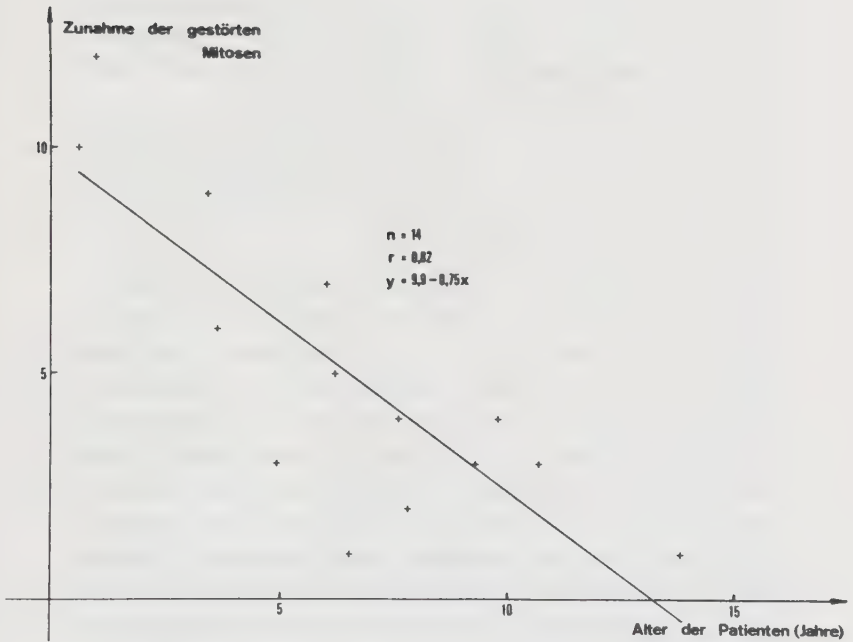


Abb. 2: Beziehung zwischen der Zunahme der gestörten Mitosen während Primidontherapie und dem Alter der jeweiligen Probanden.

Diskussion:

In der vorliegenden Untersuchung entfaltete die Primidontherapie eine clastogene Wirkung; diese läßt sich aus der Zunahme der Chromosomenschäden bei peripheren Lymphozyten nach Einstellung auf das Antikonvulsivum schließen.

Ob dafür in erster Linie Primidon oder eher sein Abbauprodukt Phenobarbital verantwortlich ist, läßt sich nicht sagen, da die Aberrationsraten nicht mit den jeweiligen Serumspiegeln einer von beiden Substanzen korrelierten.

Sicherlich gehört weder Primidon noch Phenobarbital zu den stark wirksamen clastogenen Substanzen: Es zeigte sich nämlich lediglich eine Vermehrung der Gaps und der Brüche, jedoch nicht wie bei Versuchen mit starken Mutagenen, etwa mit Cytostatika, auch eine Zunahme der Umbafiguren (8, 10); ferner war auch die Wirkung auf die Anzahl der SCEs vergleichsweise gering. So verursachte beispielsweise das Cytostatikum Mitomycin C bei Versuchen mit ansteigenden Konzentrationen bei der niedrigen Stufe von 30 ng/ml noch erwartungsgemäß wenige Aberrationen (Bruchindex: 0,07), jedoch bereits einen Anstieg der SCEs um 100 % (19). Obwohl in der vorliegenden Arbeit die Probanden während Primidonbehandlung einen Bruchindex auf dem gleichen Niveau aufweisen, ist der Anstieg der SCEs weitaus geringfügiger.

Foerst (6) führte eine in vitro-Untersuchung der strukturellen Chromosomenaberrationen nach getrennter Behandlung mit Primidon und Phenobarbital durch. Seine Ergebnisse weisen in dieselbe Richtung wie die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit: Bei Primidonbehandlung nahmen die gestörten Mitosen ebenso unabhängig von den jeweiligen Konzentrationsstufen von 9 % auf 15 %, bei Phenobarbitalbehandlung von 7 % auf 13,8 % zu. Aneuploide Zellen traten ebenso wie in der vorliegenden Arbeit, im Gegensatz zu der Untersuchung von de Toni (5), nicht vermehrt auf.

Neben der Schädigung der Chromosomen von Somazellen muß während Primidonbehandlung auch eine Schädigung der Keimzellenchromosomen in Betracht gezogen werden. Aus der Drosophila-Genetik ist

eine Korrelation zwischen dem vermehrten Auftreten von Mißbildungen und der Beobachtung von Chromosomenaberrationen bekannt. Röhrborn (29) wies allerdings auf einen möglichen Unterschied zwischen Somazellen und Keimzellen hinsichtlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber mutagenen Substanzen hin.

Bei der Primidontherapie schwangerer Frauen muß auch damit gerechnet werden, daß Primidon und Phenobarbital diaplazentar fetale Chromosomen schädigen. Große und Mitarbeiter (9) haben eine hohe Korrelation zwischen den gestörten Mitosen antikonvulsiv behandelter Frauen und deren Neugeborenen, die während ihrer Entwicklung in utero den Medikamenten ausgesetzt waren, aufgezeigt. Aus der Aberrationsrate der Mütter läßt sich also die der Kinder abschätzen.

Nach Ansicht von Große und Mitarbeiter (9) genügt es deshalb, die Chromosomen schädigende Wirkung einzelner Antikonvulsiva bei antikonvulsiv behandelten Kollektiven zu untersuchen, um Aussagen über die diaplazentare Wirkung der Mittel machen zu können. Da sich in unserer Untersuchung eine umgekehrte Proportionalität zwischen der Chromosomenschädigung und dem jeweiligen Alter der Probanden ergab, ist bei Primidonbehandlung Schwangerer die Chromosomen schädigende Wirkung auf den Fetus möglicherweise sogar größer als bei unseren Patienten.

Von teratogenen Effekten der Antikonvulsiva wurde schon wiederholt berichtet (14, 20, 23, 31, 32): Durchschnittlich 5,6 % der Kinder antikonvulsiv behandelter Mütter waren dabei mißgebildet gegenüber 1,1 % bei unbehandelten anfallskranken Müttern. Die häufigsten Mißbildungen waren Lippenpalten mit oder ohne Beteiligung des Oberkiefers und des Gaumens, es folgten Herzfehler, dann Mißbildungen des ZNS und des Gastrointestinaltraktes (33). Die schwangeren Frauen nahmen dabei am häufigsten Phenytoin, Phenobarbital und Primidon, meist in Kombination mit weiteren Antikonvulsiva ein.

Das Risiko für eine antikonvulsiv behandelte Epileptikerin, ein mißgebildetes Kind zu bekommen, wird 2-3 mal höher eingeschätzt

als für gesunde gleichaltrige Frauen der Durchschnittsbevölkerung (33). Im Hinblick auf die Gefahren, die das Absetzen der Medikation in sich birgt, ist dieses Risiko sicherlich gering. Untersuchungen, wie die unsere, mit anderen Antikonvulsiva ließen jedoch Abstufungen zu. Schwangere könnten dann womöglich auf das weniger mutagene Mittel eingestellt werden.

Ob Antikonvulsiva neben teratogenen auch oncogene Wirkungen entfalten können, ist fraglich. Zwar wurden einzelne Fälle bekannt, bei denen sich nach durchschnittlich fünfjähriger Therapie mit Antikonvulsiva in verschiedenen Kombinationen (auch Primidon und Phenobarbital) bösartige neoplastische Prozesse entwickelten: Bercel (3) beschrieb zwei Fälle mit Lymphosarkom, Hyman (12) ebenso drei Fälle mit Lymphosarkom und drei Fälle mit Lymphogranulomatose. In einer anderen Untersuchung (4) konnte jedoch bei der Überprüfung von 9000 antikonvulsiv behandelten Epileptikern über einen Zeitraum von 30 Jahren keine Häufung von Tumorkrankheiten festgestellt werden.

Seit längerem ist bekannt, daß Antikonvulsiva der Barbiturat- und der Hydantoingruppe den Serumspiegel der Folsäure senken (16, 21). Malpas und Mitarbeiter (21) fanden bei ihren Probanden nach Behandlung mit diesen Mitteln signifikant niedrigere Folsäurespiegel als bei einer unbehandelten Kontrollgruppe (durchschnittlich 2,75 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Kontrolle 5,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Die bei der Behandlung mit Hydantoinen auftretende hyperchrome Anämie (22) ist die Folge dieses Effektes (21). Der Folsäureabfall ist möglicherweise auch die biochemische Ursache der clastogenen Wirkung von Antikonvulsiva (9, 25, 32).

Zusammenfassung:

Bei 14 anfallskranken Kindern (9 Jungen, 5 Mädchen) wurden vor und während der Therapie mit Primidon (Liskantin^R, Mylepsinum^R) die numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen in Metaphasen aus Lymphozytenkulturen untersucht. Zugleich wurde während der Therapie jeweils der Serumspiegel von Primidon und dessen Abbauprodukt Phenobarbital bestimmt.

Als weiterer Indikator einer Chromosomenschädigung wurde bei 6 von den 14 Probanden die Häufigkeit des Schwesterstrang austausches (SCE) vor und während der Therapie bestimmt.

Die Zahl der numerischen Aberrationen blieb auch während der Primidonthherapie im Normbereich. Die strukturellen Aberrationen nahmen hingegen bei allen Probanden zu (4 % gestörte Mitosen vor, 9 % gestörte Mitosen während der Therapie). Dieser Anstieg wurde hauptsächlich durch das vermehrte Auftreten von Gaps und Brüchen bedingt. Die SCEs nahmen ebenfalls von durchschnittlich 0,07 SCEs pro Chromosom vor, auf 0,12 SCEs pro Chromosom nach Einstellung auf das Antikonvulsivum zu.

Die zahlenmäßigen Zunahmen der gestörten Mitosen waren umgekehrt proportional zum jeweiligen Alter der Patienten ($r = -0,82$). Kein linearer Zusammenhang bestand zwischen den Anstiegen der strukturellen Aberrationen und den Anstiegen der SCEs bei den einzelnen Probanden. Auch korrelierten weder die zahlenmäßigen Zunahmen der Aberrationen noch die der SCEs mit den Primidon- oder Phenobarbitalserumspiegeln der jeweiligen Patienten.

Literatur:

- 1 AYRAUD N., KERMAREC J., MARTINON J.:
Effets cytogénétiques des médicaments anticonvulsivants.
Ann. Génét. 11: 253-257 (1968)
- 2 BEEK B., OBE G.:
The human leukocyte test system, the use of sister chromatid exchanges as possible indicators for mutagenic activities.
Humangenetik 29: 127-134 (1975)
- 3 BERCEL N. A., HENSTELL H. H.:
The relationship between some anticonvulsants and tumors of the blood forming organs.
Bull. Los Angeles Neurol. Soc. 35: 21-24 (1970)
- 4 CLEMMESSEN J., FUGLSANG-FREDERIKSEN V., PLUM C. M.:
Are anticonvulsants oncogenic?
Lancet 1: 705-707 (1974)
- 5 DE TONI E., MASSIMO L., VIANELLO M. G., BRICARELLI F. D.:
Observation de cellules tétraploïdes et hétéroploïdes dans des cultures de leucocytes d'enfants soumis pendant leur vie foetale à l'action de médicaments anticonvulsivants.
Ann. Génét. 9: 99-103 (1966)
- 6 FOERST D.:
Chromosomenuntersuchungen nach der Einwirkung von Primidon (Mylepsinum^R) und seiner Abbauprodukte Phenobarbital und Phenyethylmalondiamide in vitro.
Acta Genet. Med. Gemellol. 21: 305-318 (1972)
- 7 GEBHART E.:
The treatment of human chromosomes in vitro: results.
In: F. Vogel u. G. Röhrborn, Chemical mutagenesis in mammals and man.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1970)

- 8 GEBHART E.:
Chromosomenaberrationen bei chemisch belasteten Personen.
Ärztliche Praxis 25: 665-666 (1973)
- 9 GROSSE K. P., SCHWANITZ G., WISSMÜLLER H. F.:
Chromosomenuntersuchungen bei Behandlung mit Anticonvulsiva.
Humangenetik 16: 209-216 (1972)
- 10 HAMPEL K. E.:
Über die Wirkung von Zytostatika auf die Chromosomen des Menschen.
Int. J. clin. Pharmacol. 1: 322-370 (1968)
- 11 HAYASHI K., SCHMID W.:
The rate of sister chromatid exchanges parallel to spontaneous chromosome breakage in Fanconi's anemia and to Trenimon induced aberrations in human lymphocytes and fibroblasts.
Humangenetik 29: 201-206 (1975)
- 12 HYMAN G. D., SOMMERS S. C.:
The development of Hodgkin's disease and lymphoma during anti-convulsant therapy.
Blood 28: 416-427 (1969)
- 13 IKUSHIMA T., WOLFF S.:
Sister chromatid exchanges induced by light flashes to 5-bromodeoxyuridine and 5-iododeoxyuridine substituted Chinese Hamster chromosomes.
Exp. Cell Res. 87: 15-19 (1974)
- 14 JANZ, VON D., FUCHS U.:
Sind antiepileptische Medikamente während der Schwangerschaft schädlich?
Deutsche Med. Wschr. 89: 241-243 (1964)
- 15 KATO H., SHIMADA H.:
Sister chromatid exchanges induced by mitomycin C: a new method of detecting DNA damage at chromosomal level.
Mut. Res. 28: 459-464 (1975)

- 16 KLIPSTEIN F. A.:
Subnormal serum folate and macrocytosis associated with anti-convulsant drug therapy.
Blood 23: 68-85 (1964)
- 17 KORENBERG J. R., FREEDLENDER E. F.:
Giemsa technique for the detection of sister chromatid exchanges.
Chromosoma 48: 355-360 (1974)
- 18 LATT S. A.:
Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes.
Proc. natn. Acad. Sci. USA 70: 3395-3399 (1973)
- 19 LATT S. A.:
Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: detection by fluorescence and induction by mitomycin C.
Proc. natn. Acad. Sci. USA 71: 3162-3166 (1974)
- 20 LOWE C. R.:
Congenital malformations among infants born to epileptic women.
Lancet 1: 9-10 (1973)
- 21 MALPAS J. S., SPRAY G. H., WITTS L.:
Serum folic-acid and vitamin-B 12 levels in anticonvulsant therapy.
Br. Med. J.: 955-957 (1966)
- 22 MANNHEIMER R., PAKESCH F., REIMER E. F., VETTER R.:
Die hämatologischen Komplikationen der Epilepsie bei Behandlung mit Hydantoinkörpern.
Med. Klin. 47: 1397 (1952)
- 23 MONSON R. R., ROSENBERG L., HARTZ S. C., SHAPIRO S., HEINONEN O. P., SLONE D.:
Diphenylhydantoin and selected congenital malformations.
New England Journal of Medicine 289: 1049-1052 (1973)

- 24 MOORHEAD P. S., NOWELL P. S., MELLMAN W. J., BATTIPS D. M.,
HUNGERFORD D. A.:
Chromosome preparations of leukocytes cultured from human
peripheral blood.
Exp. Cell Res. 20: 613-616 (1960)
- 25 NEUHÄUSER G., SCHWANITZ G., ROTT H. D.:
Zur Frage mutagener und teratogener Wirkung von Antikonvul-
siva.
Fortschr. Med. 19: 819-820 (1970)
- 26 PERRY P., WOLFF S.:
New Giemsa method for the differential staining of sister
chromatids.
Nature 251: 156-158 (1974)
- 27 PERRY P., EVANS H. J.:
Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by
sister chromatid exchanges.
Nature 258: 121-125 (1975)
- 28 ROMAN J. C., CARATZALI A.:
Effects of anticonvulsant drugs on chromosomes.
Br. Med. J. 4: 234 (1971)
- 29 RÖHRBORN G.:
The dominant lethals: method and cytogenetic examination of
early cleavage stages.
In: F. Vogel u. G. Röhrborn, Chemical mutagenesis in mammals
and man.
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1970)
- 30 SOLOMON E., BOBROW M.:
Sister chromatid exchanges - a sensitive assay of agents
damaging human chromosomes.
Mutat. Res. 30: 273-278 (1975)
- 31 SOUTH J.:
Teratogenic effects of anticonvulsants.
Lancet 2: 154 (1972)

- 32 SPEIDEL B. D., MEADOW S. R.:

Maternal epilepsy and abnormalities of the fetus and the newborn.

Lancet 2: 839-843 (1972)

- 33 SPEIDEL B. D., MEADOW S. R.:

Epilepsy, anticonvulsants and malformations.

Drugs 8: 354-365 (1974)

- 34 TAYLOR J. H., WOODS P. S., HUGHES W. L.:

The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium labelled thymidine.

Proc. natn. Acad. Sci. USA 43: 122-128 (1957)

- 35 WINDORFER A., RÜDGER H. J.:

Mikromethode zur Bestimmung von Antiepileptica und Antipyretica mit der Thermo-Gaschromatographie: Diphenylhydantoin, Primidon, Phenobarbital, Paracetamol und Aminopyrin.

Arzneimittelforschung 24: 893 (1974)

- 36 WOLFF S., PERRY P.:

Differential Giemsa staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography.

Chromosoma 48: 341-353 (1974)

Tab. I: Häufigkeit der gestörten Mitosen und der einzelnen Aberrationstypen bei vierzehn Probanden vor und während Primidonbehandlung.

Tabelle I

Patient (Alter, Geschlecht) ⁺	Ser.sp. (ug/ml) ⁺⁺	gestörte Mitosen(%)	Aberrationen Mitose	Brüche Mitose	G'	G"	B'	B"	E'	E"
1 (9,7J,w)	v	5	0,05	0,02	2	1	1	1	0	0
	P:2 Ph:9	8	0,11	0,05	6	0	2	3	0	0
2 (7,5J,w)	v	4	0,04	0,01	3	0	0	1	0	0
	P:0,6 Ph:0	5	0,06	0,03	3	0	2	1	0	0
3 (6,1J,w)	v	4	0,04	0,02	2	0	1	1	0	0
	P:9 Ph:35,4	9	0,09	0,06	3	0	3	3	0	0
4 (3,4J,w)	v	1	0,01	0	1	0	0	0	0	0
	P:20 Ph:14,5	10	0,11	0,08	5	0	3	1	0	2at
5 (4,9J,m)	v	7	0,08	0,09	2	0	2	1cp- 2A"	0	2diz
	P:11,9 Ph:41,1	10	0,12	0,11	3	0	5	1+1A"	0	1at 1tr
6 (1J,w)	v	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	P:4 Ph:64	12	0,16	0,08	8	0	5	2+1A"	0	0
7 (0,6J,m)	v	6	0,06	0,02	4	0	2	0	0	0
	P:13 Ph:17,2	16	0,17	0,06	11	0	5	1A"	0	0
8 (7,3J,m)	v	11	0,11	0,06	6	0	3	1	0	1at
	P:13,6 Ph:23,4	13	0,13	0,06	7	0	2	4	0	0
9 (13,8J,m)	v	6	0,06	0,03	3	0	2	1	0	0
	P:14,7 Ph:17	7	0,07	0,03	5	0	1	0	0	1at
10 (9,8J,m)	v	4	0,04	0,04	0	0	2	2	0	0
	P:15,8 Ph:30	8	0,08	0,05	3	0	2	2+1A"	0	0
11 (10,7Jm)	v	3	0,03	0,02	1	0	2	0	0	0
	P:13,2 Ph:16,8	6	0,06	0,04	2	0	2	1+1A"	0	0
12 (3,6Jm)	v	4	0,05	0,03	2	0	1	1+1A"	0	0
	P:0,3 Ph:21	10	0,11	0,05	6	0	4	1	0	0
13 (6J,m)	v	1	0,01	0,01	0	0	0	1	0	0
	P:14,2 Ph:19,3	8	0,09	0,07	2	0	4	2+1A"	0	0
14 (7,8J,m)	v	2	0,02	0,02	0	0	2	0	0	0
	P:11,1 Ph:24,8	6	0,06	0,05	1	0	5	0	0	0

*J=Jahre;w=weiblich;m=männlich

++=vor Primidoneinnahme;P=Primidon-,Ph=Phenobarbitalserumspiegel

A*=azentrisches Fragment;at=atypisches Chromosom;
diz=dizentrisches Chromosom;tr=Translokationskreuz;

Tab. II: Anzahl der SCEs pro Chromosom und ihre Gesamthäufigkeit bei sechs Probanden vor und während Primidonbehandlung.

Tabelle II			SCIs										
			Chromosomen in der Gruppe										
Patient	Zeitpkt. + ganz ausgewertete Mitosen	nicht beurteilbare Chromosomen	A1	A2	A3	B	C/X	D	E16	E17/18	F	G/Y	alle SCIs alle ausgew.Chr.
5	v	19	0,02	0,31	0,07	0,19	0,07	0,05	0	0	0	0	58/928 = 0,07
	n	23	0,29	0,26	0,39	0,16	0,14	0,14	0,02	0,04	0	0,01	141/1015 = 0,13
6	v	22	0,18	0,18	0,20	0,25	0,04	0,05	0	0,01	0,01	0,01	74/967 = 0,07
	n	23	0,34	0,34	0,10	0,20	0,11	0,10	0	0,03	0,03	0,01	119/1020 = 0,11
7	v	3	0	0	0,33	0,16	0,04	0	0	0	0	0	6/128 = 0,04
	n	23	0,23	0,30	0,28	0,27	0,11	0,12	0,04	0,03	0	0,01	123/1027 = 0,12
8	v	31	0,21	0,26	0,19	0,20	0,09	0,08	0	0,02	0,01	0	123/1372 = 0,09
	n	16	0,27	0,41	0,16	0,17	0,08	0,05	0	0,03	0	0	62/718 = 0,09
11	v	17	0,24	0,26	0,11	0,25	0,07	0,05	0,06	0,04	0	0,01	69/746 = 0,09
	n	29	0,34	0,31	0,22	0,30	0,20	0,06	0,01	0	0	0,01	187/1290 = 0,14
12	v	41	0,16	0,26	0,29	0,18	0,12	0,08	0,03	0,05	0,01	0	200/1860 = 0,10
	n	44	0,24	0,40	0,20	0,20	0,13	0,11	0,02	0,03	0	0,01	242/1993 = 0,12

+ v=vor, n=nach Primidoneinnahme

Tab. III: Anzahl der SCEs pro A-Chromosom bei sechs Probanden
vor und während Primidonbehandlung.

Tabelle III					SCEs Chromos. 1. Gr.			alle SCEs alle ausgewert. A-Chromosomen
Pat.	Zpkt.	Mitosen, bei denen nur A-Chromos. ausgewertet wurden	alle Mitosen, bei denen A-Chromosomen ausgewertet wurden	nicht beurteilbare A-Chromos.	A1	A2	A3	
5	v	24	43(19+24)	5	0,09	0,21	0,12	37/253=0,14
	n	20	43(23+20)	4	0,27	0,34	0,37	84/254=0,33
6	v	24	46(22+24)	3	0,21	0,20	0,12	49/273=0,18
	n	21	44(23+21)	4	0,28	0,30	0,17	66/260=0,25
7	v	32	35(3+35)	8	0,09	0,10	0,12	21/202=0,10
	n	25	48(23+25)	9	0,21	0,26	0,25	68/279=0,24
8	v	16	47(31+16)	6	0,21	0,26	0,15	58/276=0,21
	n	29	45(16+29)	14	0,22	0,31	0,13	57/256=0,22
11	v	16	33(17+16)	7	0,29	0,23	0,13	42/191=0,22
	n	17	46(29+17)	7	0,32	0,33	0,19	76/269=0,28
12	v	8	49(41+8)	5	0,17	0,23	0,30	68/289=0,23
	n	3	47(44+3)	3	0,24	0,40	0,21	80/279=0,29

Für die Überlassung des Themas danke ich Herrn Professor Dr. G. Koch, Vorstand des Instituts für Humangenetik und Anthropologie der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Mein herzlicher Dank gilt insbesondere Frau Dr. rer. nat. G. Schwanitz und Herrn Priv. Doz. Dr. med. G. Neuhäuser sowie Herrn Priv. Doz. Dr. med. A. Windorfer für ihre freundliche Unterstützung und Beratung bei meiner Arbeit.

Außerdem danke ich Frä. G. Kohl und Frau U. Hübner, die mir bei den technischen Ausführungen hilfreich zur Seite standen.

Lebenslauf:

Am 6.1.1953 wurde ich als drittes Kind des Ingenieurs Fritz Galle und seiner Ehefrau Marieluise, geb. Benirschke, in Chemnitz/Sachsen geboren.

Von 1959 - 1963 besuchte ich die Volksschule in Weiden/Oberpfalz, anschließend von 1963 - 1972 das dortige Augustinus-Gymnasium.

Im Wintersemester 1972/73 begann ich in Erlangen das Studium der Medizin. Hier bestand ich im August 1974 die ärztliche Vorprüfung.

Am 17.10.1978 bestand ich in Erlangen die ärztliche Prüfung

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen, Hauptstr. 109 (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990